

MULTIPLIKASI TUNAS *IN VITRO* BERDASARKAN JENIS EKSPLAN PADA ENAM GENOTIPE TEBU (*Saccharum officinarum* L.)

The In Vitro Shoots Multiplication Based on Explants Type on Six Sugarcane (Saccharum officinarum L.) Genotypes

ALFIA ANNUR AINI AZIZI ¹⁾, IKA ROOSTIKA ²⁾, DAN DARDA EFENDI ¹⁾

¹⁾Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jalan Meranti No. 1, Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680

²⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor, 16111

e-mail: alfia.azizi@gmail.com

Diterima: 20-02-2017; Direvisi: 06-10-2017; Disetujui: 23-10-2017

ABSTRAK

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) umumnya diperbanyak secara vegetatif menggunakan stek batang. Perbanyak tanaman dapat memanfaatkan teknik kultur jaringan karena memiliki keunggulan di antaranya, waktu perbanyak lebih cepat dari metode konvensional, tidak memerlukan tanaman induk dan tenaga kerja dalam jumlah banyak, penanaman tidak dipengaruhi musim, serta bibit yang dihasilkan lebih terjamin bebas patogen. Penelitian ini bertujuan menentukan jenis eksplan yang optimal untuk multiplikasi tunas *in vitro* enam genotipe tebu. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor pada Mei 2015 hingga Juni 2016. Eksplan dari enam genotipe tebu (PS 881, PS 865, GMP 3, TK 386, PSJK 922, dan PS 862) ditanam pada media regenerasi berdasarkan perlakuan jenis eksplan (satu tunas, dua tunas, dan tiga tunas per eksplan) yang disubkultur setiap tiga minggu. Subkultur dilakukan hingga sembilan kali, dan pengamatan daya hidup eksplan, daya regenerasi tunas, pertambahan tunas per eksplan serta tinggi tunas dilakukan pada subkultur ke tiga, ke enam, dan ke sembilan. Hasil penelitian menunjukkan interaksi genotipe dan jenis eksplan tidak berpengaruh nyata kecuali terhadap daya regenerasi tunas pada subkultur ke enam. Keenam genotipe memiliki tingkat multiplikasi tunas yang berbeda, dan PSJK 922 menghasilkan daya hidup eksplan, daya regenerasi tunas, dan pertambahan tunas terendah pada subkultur ke sembilan. Eksplan dua tunas merupakan jenis eksplan yang optimal untuk multiplikasi tunas *in vitro* dengan pertambahan 4 tunas per eksplan pada subkultur ke sembilan.

Kata kunci: Subkultur berulang, mikropropagasi, eksplan satu tunas, eksplan dua tunas, eksplan tiga tunas

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is propagated vegetatively using stem cuttings. Plant propagation can utilize tissue culture techniques because it offers a faster propagation time than conventional methods, need less mother plants and labor, planting is not influenced by the season, and produce pathogen-free guaranteed seedlings. This study aims to determine the optimal type of explant for shoot multiplication of six sugarcane genotypes. The study was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Plant Cell Tissue Biology Group, Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development, Bogor from May 2015 to June 2016. Explants from six genotypes of sugarcane (PS 881, PS 865, GMP 3, TK 386, PSJK 922, and PS 862) were grown on regeneration media based on explant type

treatments (one shoot, two shoots, and three shoots per explant) that were subcultured every three weeks. Subcultures were conducted up to nine times, then observations of survival rate, shoot regeneration rate, number of new shoots, shoot height were made on the third, sixth, and ninth subcultures. The results showed interaction between genotypes and explant type were not significantly different except to the shoot regeneration in the sixth subculture. Each genotype had different multiplication rate, and PSJK 922 produced the lowest survival explant, shoot regeneration, and number of new shoot in the ninth subculture. Two shoots explant were the optimal type of explant for *in vitro* shoots multiplication with 4 new shoots per explant in the ninth subculture.

Keywords: frequent subculture, micropropagation, one shoot explant, two shoots explant, three shoots explant

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu tanaman budidaya yang penting di Indonesia. Selain menjadi tanaman utama penghasil gula, tebu memiliki manfaat lain sebagai bahan energi terbarukan, kertas, dan pakan ternak. Pemerintah Indonesia telah menetapkan target swasembada gula tahun 2019 (Dyah dan Parnidi 2016). Konsekuensi dari hal ini adalah perlunya program perluasan lahan budidaya tebu dan pembangunan pabrik gula baru. Demi terealisasinya target tersebut maka dibutuhkan penyediaan bibit tebu yang bermutu dalam jumlah banyak yang diproduksi dalam waktu relatif singkat.

Perbanyak tebu secara vegetatif dapat dilakukan dengan dua metode yaitu konvensional dan kultur jaringan. Secara konvensional, bibit tebu berasal dari 2-3 buku (nodus) batang tebu atau lonjoran yang belum tumbuh (bagal). Proses produksi ini sepenuhnya dikerjakan di lapang sehingga terdapat beberapa kendala di antaranya memerlukan lahan yang luas, memerlukan tanaman induk dan tenaga kerja yang banyak, waktu tanam dipengaruhi musim, serta infeksi patogen obligat dan serangan penyakit sistemik yang sulit dihindarkan. Pada kultur jaringan, bahan

tanam yang digunakan berupa jaringan atau organ yang ditumbuhkan dan diperbanyak pada media buatan yang aseptik dan terkontrol. Oleh karena ini metode kultur jaringan memiliki keunggulan yaitu jumlah bibit yang dihasilkan dari satu tanaman induk lebih banyak dalam waktu yang sama dengan metode konvensional, dan dijamin bebas patogen. Menurut Dewanti et al. (2016) dan Andriani et al. (2013), metode kultur jaringan mampu menghilangkan virus penyebab penyakit mosaik tebu (*sugarcane mosaic virus*).

Produksi bibit untuk memenuhi kebutuhan perkebunan tebu nasional tentu harus dilakukan dalam skala besar dan membutuhkan dana yang tidak sedikit. Oleh karena itu pengembangan protokol yang efisien dalam memperbanyak tunas tebu *in vitro* menjadi sangat penting. Salah satu tahap memperbanyak tunas *in vitro* ialah multiplikasi. Beberapa hal yang mempengaruhi tingkat multiplikasi tunas *in vitro* yaitu komposisi media, jenis hormon, jenis eksplan, ukuran eksplan, dan kepadatan eksplan (Saadat and Hennerty 2002; Hamad and Taha 2009; Chavan et al. 2013; Mazri 2013). Fokus penelitian ini adalah jenis eksplan berupa jumlah tunas per eksplan (*shoot cluster size per explant*). Pada perbanyakan nanas secara *in vitro*, jenis eksplan satu tunas per eksplan menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan jenis eksplan dua, tiga, dan empat tunas per eksplan (Hamad and Taha 2009), sedangkan pada kurma, jenis eksplan empat tunas per eksplan menghasilkan jumlah tunas paling optimal (Mazri 2013). Jenis eksplan berupa jumlah tunas per eksplan menjadi faktor percobaan karena berkaitan dengan efisiensi penggunaan sumber eksplan dalam memperbanyak tunas *in vitro*.

Subkultur merupakan proses pindah tanam eksplan ke media baru untuk mendapatkan bibit yang banyak dalam periode waktu tertentu. Dengan subkultur juga akan diketahui waktu yang tepat untuk menginisiasi tunas baru, yaitu ketika tingkat multiplikasi tunas *in vitro* menurun dan morfologi biakan berubah akibat variasi genetik atau penurunan status fisiologis. Kemampuan multiplikasi tunas *in vitro* Pisang Kepok Unti Sayang meningkat sampai subkultur ke enam (Semarayani 2012), dan subkultur berulang pada kalus Jeruk Siam selama empat tahun tidak mengurangi kemampuan proliferasi kalusnya (Wulansari et al. 2015). Sementara itu belum diketahui sampai subkultur seberapa tingkat multiplikasi tunas tebu *in vitro* masih optimal untuk memperbanyak bibit.

Kultur tebu *in vitro* dapat memberikan respon yang berbeda-beda antar genotipe (Sukmadjaja et al. 2014; Fiah et al. 2014). Hal ini disebut dengan *Genotype dependent*. Tebu yang dibudidayakan pada perkebunan di Indonesia berbeda-beda genotipenya. Dalam produksi bibit secara massal perlu diketahui protokol memperbanyak yang tepat untuk masing-masing genotipe. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan jenis eksplan yang optimal untuk multiplikasi tunas *in vitro* pada enam genotipe tebu.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan mulai Mei 2015 hingga Juni 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah pucuk tebu berukuran 1,0 sampai 1,5 cm yang diperoleh dari tanaman yang dirawat di rumah kaca.

Bahan Tanaman

Bahan tanaman tebu yang digunakan adalah enam genotipe yang berasal dari tiga lokasi. Genotipe dan lokasi asal tebu yang digunakan adalah PS 865 dan GMP 3 dari Kebun Percobaan Cibinong (Bogor); PS 881, PS 862 dan PSJK 922 dari Kebun Percobaan Muktiharjo (Pati); serta TK 386 dari Pabrik Gula Jatitujuh (Majalengka).

Isolasi Eksplan

Sumber eksplan berupa meristem yang diisolasi dari ujung tunas apikal tebu. Tunas tersebut dicuci dengan detergen dan air mengalir. Selanjutnya, tunas direndam dengan alkohol 96% selama 3 menit lalu dilewatkan pada api bunsen untuk menghilangkan alkohol pada eksplan. Daun muda pada tunas dibuka satu per satu sampai terlihat ujung tunas. Meristem diisolasi dari ujung tunas di bawah mikroskop (dengan perbesaran 50-250x) di dalam laminar lalu ditanam pada media regenerasi, yaitu media MS ditambah dengan zat pengatur tumbuh BAP 0,3 mg/l, IBA 0,5 mg/l dan PVP 300 mg/l (Wati, 2014). Eksplan diinkubasi pada ruang kultur dengan suhu 23-25°C dan intensitas cahaya 800-1000 lux selama 16 jam setiap hari. Setelah dua bulan masa inkubasi di ruang kultur, eksplan disubkultur untuk yang pertama dan subkultur selanjutnya dilakukan setiap tiga minggu. Tunas hasil subkultur pertama menjadi eksplan untuk subkultur kedua, tunas hasil subkultur kedua menjadi eksplan untuk subkultur ke tiga, dan seterusnya sampai subkultur ke sembilan.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Percobaan disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu genotipe tebu dan jenis eksplan. Perlakuan diulang sebanyak tiga kali, satu botol per ulangan, dan tiap ulangan (botol) terdiri dari tiga eksplan. Sebagai faktor pertama adalah genotipe tebu yang terdiri dari enam genotipe. Faktor kedua adalah jenis eksplan. Eksplan yang digunakan berupa tunas dan perlakuan terdiri dari tiga taraf yaitu satu tunas per eksplan, dua tunas per eksplan, dan tiga tunas per eksplan. Ukuran tunas sama tiap perlakuan yaitu 2 sampai 2,5 cm. Percobaan dilakukan tiga kali yaitu pada subkultur ke tiga, ke enam, dan ke sembilan.

Pengamatan dilakukan saat eksplan berumur tiga minggu setelah tanam (3 MST) pada masing-masing percobaan (subkultur ke tiga, ke enam, dan ke sembilan). Peubah yang diamati ialah: 1) persentase daya hidup

eksplan (jumlah eksplan yang masih berwarna hijau per total eksplan dikali 100%); 2) persentase daya regenerasi tunas (jumlah eksplan yang tunasnya beregenerasi per total eksplan dikali 100%); 3) penambahan tunas per eksplan (banyaknya tunas baru yang dihasilkan eksplan); dan 4) tinggi tunas (diukur dari titik tumbuh sampai ujung daun dari tunas terpanjang). Analisis ragam (ANOVA) dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati dan ada tidaknya pengaruh interaksi antar faktor. Apabila pengaruh faktor tunggalnya nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%. Data hasil pengamatan diuji dengan perangkat lunak *Statistic Tool for Agriculture Research* (STAR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada interaksi yang nyata antara genotipe dan jenis eksplan, kecuali terhadap persentase daya tumbuh eksplan pada subkultur ke enam. Genotipe berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas pada ke tiga subkultur, serta terhadap persentase daya tumbuh dan penambahan tunas per eksplan pada subkultur ke enam dan ke sembilan. Jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap penambahan tunas per eksplan pada ketiga subkultur, serta terhadap persentase daya tumbuh dan tinggi tunas pada subkultur ke enam (Tabel 1).

Daya Hidup Eksplan

Persentase eksplan hidup yang tinggi hingga subkultur ke sembilan menunjukkan bahwa eksplan memiliki daya hidup yang tinggi sampai subkultur ke sembilan dengan metode perbanyakan yang digunakan. Daya hidup eksplan keenam genotipe mencapai 100% pada ke tiga subkultur, kecuali genotipe PSJK 922 yang mengalami penurunan yang nyata dibandingkan genotipe lainnya pada subkultur ke sembilan namun masih tergolong tinggi karena lebih dari 85% (Tabel 2).

Jenis eksplan tidak berpengaruh nyata terhadap daya hidup eksplan pada ke tiga taraf subkultur. Daya hidup eksplan berdasarkan jenis eksplan pada subkultur ke sembilan lebih rendah dibandingkan subkultur ke tiga dan ke enam akan tetapi persentasenya masih tinggi yaitu lebih dari 90% (Tabel 2). Matinya eksplan tebu disebabkan oleh oksidasi senyawa polifenol. Senyawa polifenol merupakan bagian dari reaksi pertahanan yang dikeluarkan oleh eksplan, namun bila senyawa tersebut teroksidasi dapat mengganggu pertumbuhan eksplan. Oksidasi senyawa polifenol dicirikan dengan warna eksplan yang berubah menjadi cokelat atau hitam dan media di sekitar eksplan juga menghitam. Oksidasi polifenol dapat dikurangi dengan menambahkan *polyvinylpyrrolidone* (PVP), asam askorbat, atau asam sitrat pada media (Ishaq and Ehirim 2011; Hutami et al. 2014).

Tabel 1. Rekapitulasi analisis ragam pertumbuhan tunas *in vitro* enam genotipe tebu berdasarkan jenis eksplan pada subkultur ke tiga, ke enam, dan ke sembilan

Table 1. Anova recapitulation of the growth of *in vitro* shoot of six sugarcane genotypes based on explant type in the third, sixth, and ninth subculture frequency

Sumber keragaman/Source	Subkultur ke tiga/ The third subculture				Subkultur ke enam/ The sixth subculture				Subkultur ke sembilan/ The ninth subculture			
	DH	DT	PT	T	DH	DT	PT	T	DH	DT	PT	T
Genotype/Genotype	tn	tn	tn	**	tn	**	**	**	**	*	*	**
Jenis eksplan/Explant type	tn	tn	**	tn	tn	*	**	*	tn	tn	**	tn
Interaksi Genotipe dan jenis eksplan/Interaction of genotype and explant type	tn	tn	tn	tn	tn	*	tn	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan: DH= persentase daya hidup, DT= persentase daya tumbuh, PT= penambahan tunas per eksplan, T= tinggi tunas, *= nyata pada taraf 5%, **= nyata pada taraf 1%, tn= tidak nyata.

Note: DH= percentage of survival rate, DT= percentage of growth rate, PT= number of new shoots per explant, T= shoot height, *= significant at 5% level, **= significant at 1% level, tn= not significant.

Tabel 2. Pengaruh genotipe dan jenis eksplan terhadap daya hidup eksplan pada umur 3 minggu setelah tanam (3MST)

Table 2. The effect of genotype and explant type to the survival rate of explant at 3 weeks after planting (3 WAP)

Perlakuan/Treatment	Subkultur ke tiga/ The third subculture		Subkultur ke enam/ The sixth subculture		Subkultur ke sembilan/ The ninth subculture	
Genotype/Genotype			(%)			
PS 881	100,0		100,0		100,0 a	
PS 865	100,0		100,0		100,0 a	
GMP 3	100,0		100,0		100,0 a	
PSJK 922	100,0		94,4		85,2 b	
TK 386	100,0		100,0		100,0 a	
PS 862	100,0		100,0		100,0 a	
Jenis eksplan/Explant type						
Eksplan satu tunas/One shoot explant	100,0		97,2		92,3	
Eksplan dua tunas/Two shoots explant	100,0		100,0		98,2	
Eksplan tiga tunas/Three shoots explant	100,0		100,0		98,2	

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT taraf nyata 5%

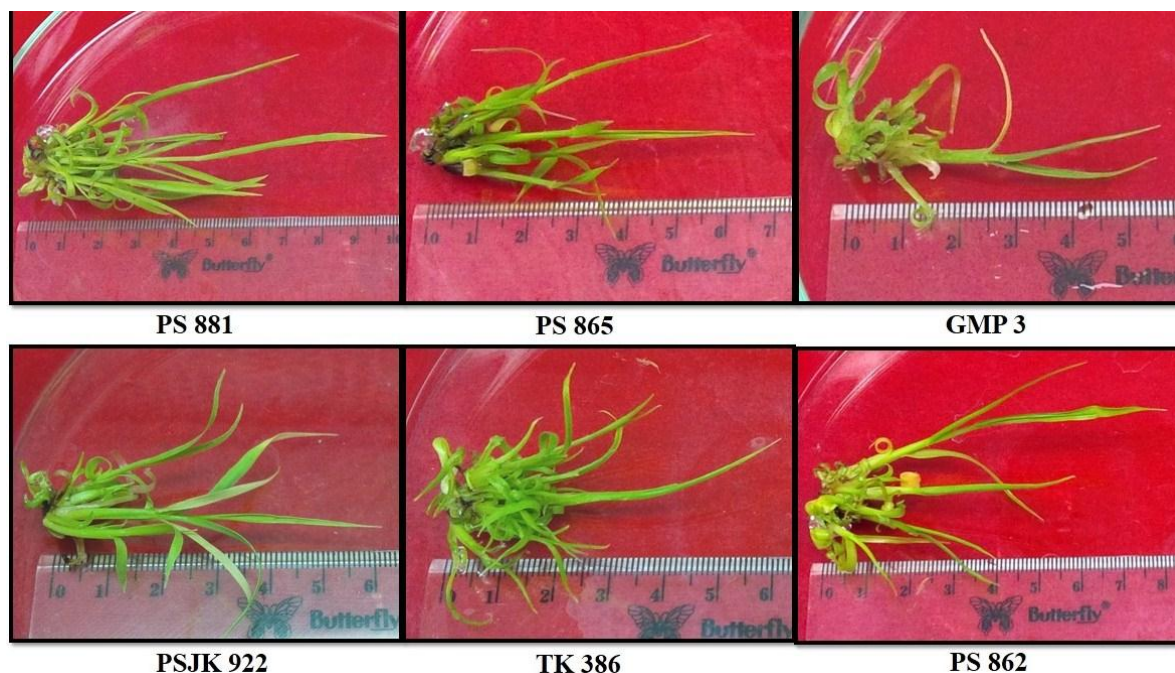
Notes: numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to LSD test at 5% level

Daya Regenerasi Tunas

Eksplan tebu yang disubkultur dan ditanam pada media regenerasi mampu membentuk tunas baru tanpa diikuti pembentukan akar dan kalus (Gambar 1). Pada subkultur ke tiga, genotipe maupun jenis eksplan tidak berpengaruh nyata terhadap daya regenerasi tunas. Pada subkultur ke sembilan, daya regenerasi genotipe PSJK 922 mengalami penurunan hingga 77,8% lebih rendah daripada

genotipe lainnya (Tabel 3). Penurunan ini diduga akan terus berlangsung pada subkultur-subkultur berikutnya.

Jenis eksplan tidak berpengaruh nyata terhadap daya regenerasi tunas pada subkultur ke tiga dan ke sembilan (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa jenis eksplan satu tunas lebih efisien dalam menghasilkan jumlah eksplan yang dapat beregenerasi hingga subkultur ke sembilan.



Gambar 1. Kondisi tunas *in vitro* pada enam genotipe tebu pada umur 3 minggu setelah tanam (3 MST)
Figure 1. The condition of *in vitro* shoots from six genotypes of sugarcane at 3 weeks after planting (3 WAP)

Tabel 3. Pengaruh genotipe dan jenis eksplan terhadap daya regenerasi tunas pada umur 3 minggu setelah tanam (3 MST)
Table 3. The effect of genotype and explant type to the regeneration rate of shoot at 3 weeks after planting (3 WAP)

Perlakuan/Treatment	Subkultur ke tiga/The third subculture	Subkultur ke sembilan/The ninth subculture
Genotipe/Genotype	----- (%)-----	
PS 881	81,5	85,2 a
PS 865	96,3	92,6 a
GMP 3	96,3	100,0 a
PSJK 922	75,9	77,8 b
TK 386	96,3	92,6 a
PS 862	81,5	100,0 a
Jenis eksplan/ Explant type		
Eksplan satu tunas/One shoot explant	84,3	85,2
Eksplan dua tunas/Two shoots explant	87,0	94,4
Eksplan tiga tunas/Three shoots explant	92,6	94,4

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT taraf nyata 5%
Notes: numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to LSD test at 5% level

Interaksi genotipe dan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap daya regenerasi tunas pada subkultur ke enam. Genotipe TK 386 yang disubkultur dengan jenis eksplan satu tunas menghasilkan daya regenerasi tunas hanya 33,3%, lebih rendah daripada kelima genotipe dengan daya regenerasi tunas 66,7% - 100% (Tabel 4). Jenis eksplan satu tunas tidak sesuai untuk genotipe TK 386 pada subkultur ke enam meskipun jenis eksplan satu tunas lebih efektif digunakan berdasarkan data pada subkultur ke tiga dan ke sembilan. Daya regenerasi tunas genotipe TK 386 meningkat hingga 92,6% pada subkultur ke sembilan (Tabel 3). Hal yang sama terjadi pada multiplikasi tunas *in vitro* Strawberry varietas *Pink Panda*, bahwa tingkat multiplikasi menurun saat subkultur kedua dan ke tiga kemudian meningkat saat subkultur keempat (Sutan et al. 2015). Diduga konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) endogen tanaman dapat meningkat pada subkultur tertentu. Menurut Hou et al. (2010), ada interaksi yang kuat antara kandungan ZPT dengan jumlah subkultur dalam kultur *in vitro* *Castanea mollissima* cv. 'Yanshanhong'.

Pertambahan Tunas *In Vitro* per Eksplan

Tunas *in vitro* tebu masih aktif beregenerasi dan bermultiplikasi sampai subkultur ke sembilan. Berdasarkan genotipe, pertambahan tunas per eksplan tebu tidak berbeda nyata pada subkultur ke tiga, tetapi berbeda nyata pada subkultur ke enam dan ke sembilan (Tabel 5). Hal ini mengindikasikan setiap genotipe memberikan respon pertambahan tunas yang berbeda setelah disubkultur lebih dari lima kali. Pertambahan tunas pada genotipe PS 881, PS 865, GMP 3, dan TK 386 meningkat pada subkultur ke sembilan, dan mungkin pertambahan tunas keempat genotipe tersebut masih aktif bila disubkultur pada

frekuensi subkultur yang lebih tinggi. Ini merupakan hal yang positif dalam perbanyakan untuk penyediaan benih karena multiplikasi tunas *in vitro* dapat terjadi dalam periode kultur yang lama sehingga dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan kontinyu. Pertambahan tunas genotipe PS 862 justru mencapai tingkat maksimal pada subkultur ke enam dan menurun pada subkultur ke sembilan. Diduga tingkat multiplikasi tunas PS 862 akan menurun bila disubkultur pada frekuensi subkultur yang lebih tinggi. Genotipe PSJK 922 menghasilkan pertambahan tunas per eksplan yang relatif tetap pada ke tiga taraf subkultur. Dalam kultur jaringan tebu, genotipe yang digunakan mempengaruhi regenerasi dan multiplikasi tunas *in vitro* (Fiah et al. 2014; Sukmadjaja et al. 2014; Tolera et al. 2014).

Jenis eksplan tiga tunas menghasilkan pertambahan tunas per eksplan yang berbeda nyata pada ke tiga taraf subkultur. Perlakuan eksplan tiga tunas menghasilkan pertambahan tunas per eksplan paling banyak pada subkultur ke tiga, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan eksplan dua tunas pada subkultur ke enam dan ke sembilan. Hal tersebut mengindikasikan bahwa jenis eksplan dua tunas lebih efisien dalam perbanyakan tunas *in vitro* tebu pada frekuensi subkultur tinggi (6 dan 9 kali). Penelitian multiplikasi tunas *Bambusa arundinacea* secara *in vitro* menggunakan jenis eksplan tiga hingga empat tunas per eksplan untuk menghasilkan tingkat multiplikasi yang optimal (Venkatachalam et al. 2015). Tebu dan bambu merupakan tanaman dalam famili yang sama yaitu Poacea, dan sesuai dengan penelitian ini, jenis eksplan lebih dari satu tunas menghasilkan tingkat multiplikasi tunas *in vitro* yang optimal.

Tabel 4. Pengaruh interaksi genotipe dan jenis eksplan terhadap daya regenerasi tunas umur 3 minggu setelah tanam (3 MST) pada subkultur ke enam

Table 4. The interaction effect of genotype and explant type to the regeneration rate of shoot at 3 weeks after planting (3 WAP) in the sixth subculture

Genotipe/Genotype	Jenis eksplan/Explant type		
	Eksplan satu tunas/One shoot explant	Eksplan dua tunas/Two shoots explant	Eksplan tiga tunas/Three shoots explant
	----- (%) -----		
PS 881 Pati	77,8 a	100,0 a	88,9 a
PS 865 Bogor	100,0 a	100,0 a	100,0 a
GMP 3 Bogor	100,0 a	100,0 a	88,9 a
PSJK 922 Pati	83,3 a	66,7 a	83,3 a
TK 386 Jatitujuh	33,3 b	77,8 a	88,9 a
PS 862 Pati	77,8 a	100,0 a	100,0 a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT taraf nyata 5%
Notes: numbers followed by the same letters in the same column and row are not significantly different according to LSD test at 5% level

Tabel 5. Pengaruh genotipe dan jenis eksplan terhadap pertambahan tunas per eksplan pada umur 3 minggu setelah tanam (3 MST)

Table 5. The effect of genotype and explant type to the number of new shoots per explant at 3 weeks after planting (3 WAP)

Perlakuan/Treatment	Subkultur ke tiga/ The third subculture	Subkultur ke enam/ The sixth subculture	Subkultur ke sembilan/ The ninth subculture
Genotipe/ Genotype			
PS 881	3,1	2,9 ab	4,6 a
PS 865	2,9	3,4 ab	4,7 a
GMP 3	4,2	2,2 b	3,6 ab
PSJK 922	2,1	2,2 b	2,4 b
TK 386	3,3	1,6 b	3,2 ab
PS 862	2,9	4,2 a	3,3 ab
Jenis eksplan/ Explant type			
Eksplan satu tunas/One shoot explant	2,3 b	2,0 b	1,8 b
Eksplan dua tunas/Two shoots explant	3,0 b	2,9 a	4,1 a
Eksplan tiga tunas/Three shoots explant	4,0 a	3,5 a	5,0 a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT taraf nyata 5%

Notes: numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to LSD test at 5% level

Tinggi Tunas *In Vitro*

Ukuran planlet dalam perbanyakan melalui kultur jaringan untuk memproduksi bibit tebu secara masal perlu diperhatikan, karena ukuran planlet yang sesuai dapat mendukung keberhasilan tahap aklimatisasi (Sukmadjaja dan Ade 2011; Khan et al. 2008). Tinggi tunas pada ke tiga subkultur menunjukkan respon yang berbeda nyata antar genotipe. Tinggi tunas genotipe PS 865, PSJK 922, dan PS 862 pada subkultur ke sembilan lebih rendah dibandingkan pada subkultur ke enam (Tabel 6), tetapi tinggi tunas yang dihasilkan masih sesuai standar untuk pembentukan planlet.

Pada penelitian Sukmadjaja dan Ade (2011), tinggi tunas eksplan tebu yang digunakan untuk pembentukan planlet adalah 2,8 cm.

Jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas pada subkultur ke enam. Eksplan tiga tunas menghasilkan tinggi tunas *in vitro* tertinggi namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan eksplan dua tunas pada subkultur ke enam (Tabel 6). Ukuran eksplan pada penelitian ini berdasarkan genotipe juga jenis eksplan sudah ideal untuk pembentukan planlet tebu.

Tabel 6. Pengaruh genotipe dan jenis eksplan terhadap tinggi tunas *in vitro* pada umur 3 minggu setelah tanam (3 MST)Table 6. The effect of genotype and explant type to the height of *in vitro* shoot at 3 weeks after planting (3 WAP)

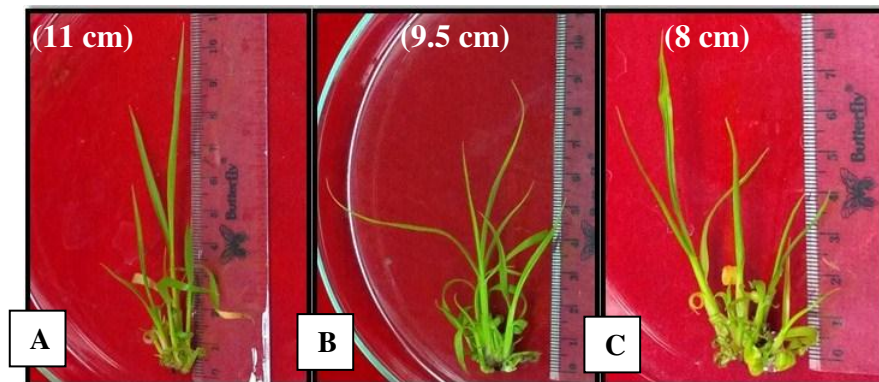
Perlakuan/Treatment	Subkultur ke tiga/ The third subculture	Subkultur ke enam/ The sixth subculture	Subkultur ke sembilan/ The ninth subculture
Genotipe/Genotype			
	------(cm)-----		
PS 881	7,51 ab	8,40 a	9,10 a
PS 865	5,34 b	8,38 a	7,79 ab
GMP 3	7,79 a	5,91 ab	6,58 bc
PSJK 922	8,43 a	5,34 b	5,02 c
TK 386	8,69 a	7,83 ab	8,10 ab
PS 862	7,74 ab	7,23 ab	5,84 bc
Jenis eksplan/ xplant type			
Eksplan satu tunas/One shoot explant	7,24	6,31 b	6,66
Eksplan dua tunas/Two shoots explant	7,27	7,05 ab	7,12
Eksplan tiga tunas/Three shoots explant	8,24	8,19 a	7,42

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT taraf nyata 5%

Notes: numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to LSD test at 5% level

Menurut (Biradar et al. 2009), metode perbanyakan dengan multiplikasi tunas aksilar merupakan metode yang lebih banyak digunakan dalam perbanyakan klonal karena menjaga keakuratan klonal (*true-to-type*). Hal ini sesuai dengan hasil percobaan sampai subkultur ke sembilan, tidak terjadi perubahan morfologi dan warna (*varigata*) pada

eksplan (Gambar 1 dan 2). Berbeda dengan pertambahan tunas per eksplan yang cenderung meningkat, tinggi tunas cenderung menurun. Diduga meningkatnya pertambahan tunas menyebabkan terjadinya persaingan antar tunas dalam menyerap nutrisi dari media sehingga tinggi tunas menurun (Gambar 2).



Gambar 2. Pertumbuhan tunas *in vitro* tebu genotipe PS 862 dengan jenis eksplan tiga tunas pada subkultur ke tiga (A), subkultur ke enam (B), dan subkultur ke sembilan (C)

Figure 2. The growth of *in vitro* shoots growth of sugarcane genotype PS 862 with three shoots of explant type in the third subculture (A), sixth subculture (B), and ninth subculture (C)

Perbandingan Jumlah Tunas melalui Kultur Jaringan dan Perbanyakan Konvensional

Estimasi jumlah planlet yang akan dihasilkan dapat dihitung menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Pennell (1987) dengan modifikasi perhitungan sebagai berikut.

$$Y = B \times A^n \times F$$

$$= 1 \times (3,6)^9 \times 91,3\%$$

$$= 92.724,2$$

Keterangan: Y = jumlah planlet yang dihasilkan, A = jumlah tunas yang dihasilkan setiap subkultur (faktor multiplikasi), B = jumlah eksplan yang ditanam, n = jumlah subkultur pada periode tertentu (1 tahun), F = persentase keberhasilan kultur

Notes: Y = the number of planlet produced, A = the number of shoot produced each subculture (multiplication factor), B = the number of explant cultured, n = the number of subculture in particular period (1 year), F = success percentage of culture

Rata-rata pertambahan tunas saat umur eksplan 3 MST adalah 3,6 tunas per eksplan (Tabel 5), dan persentase keberhasilan kultur dengan menggunakan rata-rata daya regenerasi tunas yaitu sebesar 91,3% (Tabel 3). Dengan asumsi tidak ada pengaruh eksternal seperti tenaga kerja dan kapasitas laboratorium, maka tunas tebu *in vitro* yang

dihasilkan dari 1 tunas aksilar yang dikulturkan pada media MS + IBA 0,5 mg/l + BAP 0,3 mg/l dan disubkultur setiap tiga minggu selama 1 tahun menghasilkan 92.724 planlet.

Secara konvensional, satu tanaman tebu dapat menghasilkan 8-12 tunas per 6 bulan (Dyah dan Parnidi 2016). Bila dipilih rata-rata tunas yang dihasilkan 10 tunas maka tunas yang bisa dihasilkan secara konvensional dalam satu tahun adalah $10^2 = 100$ tunas. Hasil perhitungan tunas ini menunjukkan bahwa perbanyakan bibit tebu melalui kultur jaringan menghasilkan tunas yang lebih banyak dibanding perbanyakan secara konvensional.

KESIMPULAN

Interaksi antara genotipe dan jenis eksplan tidak berpengaruh nyata kecuali terhadap daya regenerasi tunas pada subkultur ke enam. Genotipe PS 881, PS 865, GMP 3, PSJK 922, TK 386, dan PS 862 menunjukkan tingkat multiplikasi yang berbeda. Genotipe PSJK 922 menunjukkan daya hidup eksplan, daya regenerasi tunas, dan pertambahan tunas paling rendah pada subkultur ke sembilan, namun tinggi tunas yang dihasilkan masih memenuhi standar untuk pembentukan planlet. Eksplan dua tunas adalah jenis eksplan yang optimal untuk multiplikasi tunas *in vitro* pada enam genotipe tebu dengan pertambahan tunas sebanyak 4 tunas per eksplan pada subkultur ke sembilan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian yang telah mengizinkan dan menyediakan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, M., Ermavitalini, D. and Nurmalasari (2013) 'Eliminasi sugarcane mosaic virus melalui kemoterapi pada tebu (*Saccharum officinarum*) varietas NXI-2T secara in vitro', *Sains Dan Seni Pomits*, 2(2), pp. 2337–3520.
- Biradar, S., Biradar, D. P., Patil, V. C., Patil, S. S. and Kambar, N. S. (2009) 'In vitro plant regeneration using shoot tip culture in commercial cultivar of sugarcane', *Karnataka J. Agric. Sci.*, 22(1), pp. 24–27.
- Chavan, J. J., Gaikwad, N. B. and Yadav, S. R. (2013) 'High multiplication frequency and genetic stability analysis of *Ceropegia panchganiensis*, a threatened ornamental plant of Western Ghats: Conservation implications', *Scientia Horticulturae*. Elsevier B.V., 161, pp. 134–142. doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.042.
- Dewanti, P., Widuri, L. I., Alfian, F. N., Addy, H. S., Okviandari, P. and Sugiharto, B. (2016) 'Rapid Propagation of Virus-free Sugarcane (*Saccharum officinarum*) by Somatic Embryogenesis', *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. Elsevier Srl, 9, pp. 456–461. doi: 10.1016/j.aaspro.2016.02.163.
- Dyah, R. P. and Parnidi (2016) 'Pengadaan Benih Tebu Bermutu', in *Bunga Rampai Peningkatan Produktifitas Tebu untuk Mempercepat Swasembada Gula*. Malang: Balit Tanaman Serat, pp. 33–54.
- Fiah, R. L., Taryono and Toekidjo (2014) 'Kemampuan regenerasi kalus empat klon tebu (*Saccharum officinarum* L.)', *Vegetalika*, 3(1), pp. 91–101.
- Hamad, A. M. and Taha, R. M. (2009) 'Effect of explant density on the in vitro proliferation and growth of separated and cluster shoots of smooth Cayenne Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.)', *Asian Journal of Plant Sciences*, pp. 1–5.
- Hou, J., Guo, S. and Wang, G. (2010) 'Effects of in vitro subculture on the physiological characteristics of adventitious root formation in microshoots of *Castanea mollissima* cv. 'yanshanhong'', *Journal of Forestry Research*, 21(2), pp. 155–160. doi: 10.1007/s11676-010-0025-z.
- Hutami, S., Purnamaningsih, R., Mariska, I. and Diantina, S. (2014) 'Multiplikasi tunas dan induksi perakaran pada ubi kelapa (*Dioscorea alata* L.) dan gembili (*Dioscorea esculenta* L.) secara in vitro', *AgroBiogen*, 10(2), pp. 53–60.
- Ishaq, M. N. and Ehirim, B. O. (2011) 'Reduction of Exudates (Browning) in Sugarcane Micro Propagation', *Nigerian Journal of Biotechnology*, 23, pp. 40–44.
- Khan, S. A., Rashid, H., Chaudhary, M. F., Chaudhry, Z. and Afroz, A. (2008) 'Rapid micropropagation of three elite Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties by shoot tip culture', *African Journal of Biotechnology*, 7(13), pp. 2174–2180. Available at: <http://www.academicjournals.org/AJB>.
- Mazri, M. A. (2013) 'Effect of Basal Medium, Explants Size and Density on the In Vitro Proliferation and Growth of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivar "16-bis"', *Not Sci Biol*, 5(3), pp. 332–337.
- Pennell, D. (1987) *Micropropagation in Horticulture*. Grower Guide No. 29. Grower Books, London. 71 p.
- Saadat, Y. A. and Hennerty, M. J. (2002) 'Factors affecting the shoot multiplication of Persian walnut (*Juglans regia* L.)', *Scientia Horticulturae*, 95(3), pp. 251–260. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00003-1.
- Semarayani, C. I. M. (2012) *Subkultur Berulang Tunas In Vitro Pisang Kepok Unti Sayang pada Beberapa Komposisi Media*. IPB.
- Sukmadjaja, D. and Ade, M. (2011) 'Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro', *Agro Biogen*, 7(2), pp. 106–118. doi: 10.21082/jbio.v7n2.2011.p106-118.
- Sukmadjaja, D., Supriati, Y. and Pardal, S. J. (2014) 'Kultur apeks untuk penyediaan bibit unggul tebu varietas PS864 dan PS881', *AgroBiogen*, 10(2), pp. 45–52.
- Sutan, A. N., Popescu, A. and Isac, V. (2015) *Studies on the major factors affecting in vitro micropropagation of two intergenic hybrids *Fragaria x Potentilla**. Pitesti.
- Tolera, B., Diro, M. and Belew, D. (2014) 'Response of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties to BAP and kinetin on in vitro shoot multiplication', *Advances in Crop Science and Technology*, 3(5), pp. 694–697. doi: 10.4172/2329-8863.1000126.
- Venkatachalam, P., Kalaiarasi, K. and Sreeramanan, S. (2015) 'Influence of plant growth regulators (PGRs) and various additives on in vitro plant propagation of *Bambusa arundinacea* (Retz.) Wild: A recalcitrant bamboo species', *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Academy of Scientific Research and Technology, 13(2), pp. 193–200. doi: 10.1016/j.jgeb.2015.09.006.
- Wati, R. P. D. L. (2014) 'Optimasi Perlakuan Air Panas, Bahan Antiviral dan Pembekuan Jaringan Apeks dan Meristem Tebu (*Saccharum officinarum* L.)', p. 40.
- Wulansari, A., Purwito, A., Husni, A. and Sudarmonowati, E. (2015) 'Kemampuan regenerasi kalus embriogenik asal nuselus jeruk siam serta variasi fenotipe tunas regeneran', *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(1), pp. 97–104. doi: 10.13057/psnmbi/m010116.

